Aus der II. Medizinischen Klinik der Universität München
Vorstand: Professor Dr. Schittenhelm

Experimentelle Untersuchungen in vitro et vivo zur Frage der Wirksamkeit homöopathischer Verdünnungen und Komplexmittel.

(Ausgeführt mit Mercurius cyanatus Oligoplex.)

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

verfaßt und einer

Hohen medizinischen Fakultät der Bayerischen
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Konrad Wilhelm Müller
Nürnberg

München 1937

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

HIPPOKRATES

ORGAN FÜR DIE EINHEITSBESTREBUNGEN IN DER MEDIZIN
WOCHENSCHRIFT FÜR NEUE DEUTSCHE HEILKUNDE

SCHRIFTLEITUNG:
HEINRICH K. KUNSTMANN, PFORZHEIM, UND MARTIN VOGEL, DRESDEN
VERLAG: HIPPOKRATES-VERLAG MARQUARDT & CIE. / STUTTGART

1938 Heft 34 (S. 757—864)

Sonderdruck

Aus der II. Med. Universitätsklinik München, Direktor: Professor Dr. A. Schittenhelm

Experimentelle Untersuchungen in vitro et vivo zur Frage der Wirksamkeit homöopathischer Verdünnungen und Komplexmittel

(Ausgeführt mit Mercurius cyanatus Oligoplex)

Von Konrad Wilhelm Müller

A. Mischarzneitherapie und ihre wissenschaftliche Begründung durch Bürgi

Die Anregungen, welche die moderne Arzneimitteltherapie durch die grundlegenden Arbeiten von Bürgi (3) erfahren hat, finden ihren deutlichen Niederschlag in den Kombinationspräparaten der chemisch-pharmazeutischen Industrie. Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit einem nach solchen Grundsätzen hergestellten Präparat.

Nach Bürgi besteht der Synergismus der Arzneimittel in dem gleichzeitig wirkenden Einfluß verschiedener pharmakologischer Stoffe auf eine bestimmte Krankheitserscheinung oder auf eine bestimmte Organfunktion. Dabei ist zu bemerken, daß zwei synergetisch wirksame Stoffe entweder den gleichen oder verschiedene pharmakologische Angriffspunkte haben können. Bewirken zwei verschiedene Stoffe in einer Arzneimittelkombination die gleiche Funktionsänderung bei gleichem pharmakologischen Angriffspunkt, so ist eine additive, bei verschiedenen Angriffspunkten eine potenzierte Wirkung zu erwarten, wobei unter Potenzierung nur eine Vermehrung über den Additionswert zu verstehen ist.

Eine solche Kombination von Arzneimitteln liegt in den Oligoplexen vor. Zu der Prüfung, ob ein Oligoplex (Oplx.) andere Wirkungen erkennen läßt, als seine Einzelbestandteile, wurde Mercurius cyanatus Oligoplex (McO.) verwandt.

B. Experimentelle Untersuchungen an einem Komplexmittel

I. Prüfung im Bakterizidieversuch

Kommt einem Olpx. überhaupt bakterizide Wirkung zu, dann müßte es also stärker bakterizid sein als seine Einzelbestandteile. Wir prüften nun die Wirkung von McO. (Fr. E. Koch [10]) in 4%iger alkoholischer Lösung an Diphtheriebakterien (Di.-B.).

Nach verschiedenen Einwirkungszeiten der zu untersuchenden Flüssigkeiten auf möglichst gleich dichte Bakterienaufschwemmungen wurde auf Blutagar abgeimpft und nach 24—48stündiger Bebrütung an der vorhandenen oder fehlenden Koloniebildung festgestellt, ob die Keime noch vermehrungsfähig waren. Nach einer Einwirkungszeit von 1 Minute waren nur noch wenige, im Wachstum stark gehemmte Kolonien entstanden, während nach 2 Minuten keine Keime mehr auftraten. Nun wurden die Einzelbestandteile von McO. in solchen Konzentrationen, wie sie im Olpx. vorhanden sind, ebenfalls in 4%iger alkoholischer Lösung geprüft. Dabei zeigte sich, daß Spongia, Baptisia, Echinacea und Ammon. brom. erst nach 24stündiger Einwirkung die Vermehrungsfähigkeit beeinflussen, Merc. cyan. und Acid. nitr. schon innerhalb von 6 Stunden. 4%iger Alkohol allein hemmt das Di.-B.-Wachstum auch nach 48 Stunden noch nicht. Die Mischung der

beiden wirksamsten Bestandteile erreicht die Wirkung des Gesamtoligoplexes nicht, jedoch wurden die Di.-B. um eine Stunde schneller als durch beide Einzelsubstanzen allein vermehrungsunfähig. Werden Echinacea und Baptisia, deren Einzelwirkung erst nach 24stündiger Einwirkung erkennbar ist, gemischt, so steigt deren Wirkungsgrad auf 7 Stunden. Die Wirkung des Gesamtoligoplexes gegenüber den am stärksten wirksamen Einzelmitteln drückt sich im Zeitfaktor folgendermaßen aus: 2 Minuten (Oplx.): 300 Minuten (Merc. cyan.), d. h. also eine Zunahme um das 150fache.

Angeblich soll durch die Hinzufügung von $MnCl_2$, $CaCl_2$, $MgCl_2$ und HCl zum Oplx. die bakterizide Wirkung noch weiter verstärkt werden. Auch diese Angaben unterzogen wir einer experimentellen Nachprüfung. $MnCl_2$, $CaCl_2$ und $MgCl_2$ beeinflussen Di.-B. auch nach 24 Stunden noch nicht, dagegen tötet HCl in der angegebenen Konzentration Di.-B. in 10 Minuten. Fügt man aber diese Substanzen in gleichen Konzentrationen dem Oplx. zu, so werden Di.-B. fast im Augenblick der Einwirkung — innerhalb von 5 Sekunden — vermehrungsunfähig. Deshalb erschien die Frage wichtig, ob auch Verdünnungen des Oplx. noch bakterizide Wirkung haben können. Bei 1:10 treten nur bei sofortiger Abimpfung nach 24stündiger Bebrütung noch vereinzelte Kolonien auf. Ebenso verhält sich die Verdünnung 1:20. Nur ganz vereinzelte Keime sind noch vermehrungsfähig. Aber auch diese erscheinen stark geschädigt, denn sie vermögen erst nach 48stündiger Bebrütung zu Kolonien auszuwachsen. Sogar eine Verdünnung von 1:100 tötet Di.-B. innerhalb von 4 Stunden. Auch hier bestätigt sich wieder die starke Leistungssteigerung des Olpx. gegenüber den schwächer wirksamen Einzelbestandteilen. Bei dieser Verdünnung von 1:100 sind in 1 ccm die Einzelmittel noch in folgender Menge vorhanden:

Ammonium brom. . . .	0,0001 g
Echinacea	0,0001 g
Acid. hydrochloric. . . .	0,0000625 g
Baptisia	0,00001 g
Spongia	0,00001 g
Acid. nitr.	0,000001 g
Merc. cyan.	0,0000001 g

Da McO. besonders bei Di. gegeben wird, war die Frage von Bedeutung, ob Di.-B. schneller als andere Bakterienarten abgetötet werden. Wir ließen deshalb das Oplx. auf Bacterium coli, Staphylokokken und Streptokokken einwirken. Diese drei Bakterienarten wurden durch McO. sofort vermehrungsunfähig. Bei der Verdünnung 1:20 waren Di.-B. nach einer Einwirkungsdauer von 1 Minute nach 24stündiger Bebrütung nicht mehr vermehrungsfähig, während Bact. coli bis zu 10 Minuten, Staphylokokken noch nach 30 Minuten Einwirkung Kolonien zu bilden vermochten. Auffallend war der Einfluß auf Streptokokken. Nach einer Einwirkungszeit von 3 Minuten waren noch 2 Kolonien gewachsen. Da nun sogar innerhalb der gleichen Bakterienart, besonders aber bei Coli-Bakterien starke individuelle Unterschiede in der Resistenz verschiedener Stämme beobachtet werden (z. B. in ihrem antagonistischen Verhalten gegen Typhusbakterien [Fr. E. Koch und E. Krämer (13)]), wurden alle zur Prüfung verwendeten Stämme in einer Vergleichslösung von 1 %igem Phenol geprüft. Dabei zeigte sich, daß Streptokokken gegen Phenol resistenter sind als andere Bakterienarten, gegen McO. jedoch empfindlicher als die übrigen, mit Ausnahme von Di.-B. Diese Tatsache könnte im Hinblick auf die örtliche Anwendung solcher Lösungen bei der Di. des Menschen von Bedeutung sein, da nach Literaturangaben Mischinfektionen mit hämolysierenden Streptokokken bei maligner Diphtherie häufig sind.

Doshocil (7) konnte bei 11 schweren Fällen von Rachendiphtherie aus dem Blute von 10 Kindern hämolytische Streptokokken züchten. Von Bormann (2) untersuchte 77 Fälle von „invasiver" (maligner) Diphtherie und konnte bei 31,2 % aus dem beim Lebenden entnommenen Blut Streptokokken nachweisen. Bei 40 gleichzeitig untersuchten „reinen" Fällen gelang dies nur bei 7,1 %. Die Annahme einer Mischinfektion bei invasiver Di. erscheint ihm damit als sehr wahrscheinlich.

II. Einfluß auf Diphtherietoxin

1. In vitro

Die Bedeutung eines Mittels für die Behandlung der Di. ist nicht nur abhängig von seiner Einwirkungsfähigkeit auf Di.-B., sondern auch davon, ob es Di.-Toxin zu vernichten imstande ist. Um auch darüber Anhaltspunkte zu gewinnen, wurde eine Reihe von Tierversuchen an Meerschweinchen angestellt. Konzentriertes Di.-Toxin (500fach) wurde mit konzentriertem McO. im Verhältnis 1:10 vermischt und nach 5 Minuten

noch mit physiologischer NaCl-Lösung 1 : 10 weiter verdünnt. Davon wurden 1,0 ccm intraperitoneal injiziert. In dieser Menge waren dann noch die 5fache Dosis let. min. enthalten, McO. dagegen nur noch in einer Verdünnung 1 :10. Fünf Kontrolltiere erhielten diese Menge ohne McO. nach Verdünnung mit physiol. NaCl und fünf Tiere bekamen Di.-Toxin nach Mischung mit McO. Die Kontrollen starben ausnahmslos innerhalb von 48 Stunden, während alle Tiere, die McO. erhalten hatten, ohne Krankheitserscheinungen oder Gewichtsabnahme überlebten.

Wie oben erwähnt, wird durch Zusätze von $MnCl_2$, $CaCl_2$, $MgCl_2$ und HCl zum McO. (im folgenden mit McON. bezeichnet) die bakterizide Wirkung gesteigert. Wir prüften deshalb in einem Parallelversuch auch dessen Wirkung auf Di.-Toxin. Die Verdünnungen wurden in gleicher Weise hergestellt. Auch bei diesem Versuch überlebten alle Tiere.

Nach diesen Untersuchungen kann angenommen werden, daß McO. Di.-Toxin bei unmittelbarer Einwirkung augenblicklich entgiftet. Welche Bestandteile dafür in Frage kommen, kann nur kurz erörtert werden, da für die genaue Durchprüfung zu viel Tiere erforderlich wären. Da Dernby und Walbum (6) einen Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration auf die Wirkung des Toxins festgestellt haben, ist von uns noch untersucht worden, ob die Wirkung des McO. auf Toxin ausschließlich eine Funktion der Wasserstoffionenkonzentration darstellt. Unter anderen Versuchen mit verschiedenen Säuren und Di.-Toxin wurde auch Di.-Toxin mit Säuren von verschiedenen Wasserstoffionenkonzentrationen aus Glukoselösungen gemischt. Je 1,9 ccm Säure wurde mit 0,1 % ccm Di.-Toxin 1 : 5 versetzt. Dies entsprach einer 5fachen Dosis let. min. Nach Herstellung wurde sofort intraperitoneal injiziert. Es zeigte sich, daß mit zunehmender Säurekonzentration eine steigende Entgiftung des Toxins erfolgt. P_h-Werte, wie sie im McON. vorlagen (2,8), können aber allein die toxinentgiftende Wirkung des Oplx. nicht erklären, denn im obigen Versuch starben die Tiere auch noch nach entsprechender Ansäuerung des Toxins, wenn auch z. T. etwas später als die Kontrollen.

2. In vivo

Wichtiger als die Entgiftung des Toxins in vitro ist die Frage nach dem Einfluß einer Substanz in vivo: d. h. ob McO. auch bei getrennter Anwendung imstande ist, mit Di.-Toxin tödlich vergiftete Meerschweinchen noch zu retten oder wenigstens die Lebensdauer zu verlängern. Hier lagen bereits Untersuchungen von Fr. E. Koch (10) vor.

Zur Nachprüfung dieser Versuche gaben wir in gleicher Weise 30 Meerschweinchen die Dosis let. min. des Di.-Toxins i. p. Von 10 als Kontrollen mitbehandelten Tieren starben 9 am 2. und 1 Tier am 4. Tage. Dies ergibt eine durchschnittliche Lebensdauer von 2,2 Tagen. In vier Gruppen von je 5 Tieren wurden nun täglich 0,5 ccm McO. bzw. McON. in Konzentrationen von 1 : 20 oder 1 : 40 subkutan gespritzt. Fr. E. Koch hatte früher in einer Reihe von Versuchen angegeben, daß bei Konzentrationen unter 1 : 10 und über 1 : 40 bei McO. weder ein Überleben noch eine Verlängerung der Lebensdauer vorkam. Unsere Versuche ergaben, daß bei einer Konzentration von 1 : 20 des McO. ein Tier überlebte und bei drei Tieren der Eintritt des Todes verzögert war (+4). Die durchschnittliche Lebensdauer betrug 3,5 Tage, wobei das überlebende Tier nicht mit eingerechnet ist. Bei einer Verdünnung von 1 : 40 des McO. und 1 : 20 des McON. konnte eine deutliche Lebensverlängerung nicht beobachtet werden, während das McON. 1 : 40 eine durchschnittliche Lebensdauer von 3,4 Tagen zeigte. Eine Lebensverlängerung oder ein Überleben konnten wir also nur bei McO. 1 : 20 und McON. 1 :40 bestätigen. Es muß hier allerdings in Betracht gezogen werden, daß die i. p. eingeführte Toxinmenge fast augenblicklich (10 Minuten) resorbiert wird, während subkutane Injektionen erst nach etwa 4 Stunden ihre Wirkung entfalten können. Wie wir aber bei Wund-Diphtherie-Versuchen noch sehen werden, liegt bisher bei 4 Stunden nach der Infektion die Grenze, innerhalb der Tiere überhaupt noch gerettet werden können. Es hätten hier weitere Versuche mit abgeänderter Methodik zu erfolgen. Bei diesen Versuchen bleibt jedoch die Frage ungeklärt, ob das Di.-Toxin selbst im Organismus durch die Behandlung angegriffen, oder ob durch diese Stoffe die Resistenz der Tiere gesteigert wird.

III. Untersuchungen über den Einfluß von Merc. cyan. Oplx. auf die experimentelle Wund-Diphtherie von Meerschweinchen

Die bisherigen Versuche geben zwar Aufschluß über die Wirkungsweise des McO., jedoch lassen

sich daraus keine Schlüsse auf die Wirksamkeit des Präparates am Menschen ziehen. Dagegen ähneln die Versuche mit Wund-Diphtherie den Verhältnissen am Menschen viel mehr, da nach Untersuchungen von K. W. Clauberg (5) anzunehmen ist, daß es sich bei der Di. des Menschen um eine Infektion handelt, die primär von der Oberfläche der Tonsillen ausgeht.

Allerdings ist es bei Versuchen mit lebenden Bakterien schwieriger, die Infektion zu dosieren, als bei Versuchen mit genau meßbaren Toxinmengen. Um sichere Schlüsse ziehen zu können, sind zahlreiche Tierversuche nötig.

Die zur Infektion kommenden Meerschweinchen hatten ein mittleres Gewicht von 230—280 g. Unter größter Schonung der Tiere wurde auf dem Rücken eine etwa zehnpfennigstückgroße Wunde geschnitten und die Bakterien mit einer Öse 5 bis 10 mm horizontal unter die Wundränder gut verrieben. Unbehandelte Tiere sterben bei dieser Art der Infektion innerhalb von 48 Stunden mit größter Regelmäßigkeit an typischer Di. Vom Therapeuticum wurden 6mal stündlich je 5 Tropfen auf die Wunde gegeben, und zwar wurde damit sofort oder nach 1, 2, 3, 4 oder 5 Stunden nach der Infektion begonnen. Durch die Behandlung mit McON. gelang es, die Meerschweinchen noch 3 Stunden nach der Infektion fast mit Sicherheit zu retten (s. Tabelle 1).

Tabelle 1

Einfluß von McON. auf Wund-Di bei normalen Grünfuttertieren

Zeit der Behandlung nach der Infektion	Nr.	Ausgang	
unbehandelte Kontrolltiere	1590	stirbt	2. Tag
	1591	„	2. „
	1592	„	2. „
	1593	„	1. „
	1594	„	2. „
	1595	„	2. „
	1596	„	2. „
	1597	„	1. „
sofort	1598	abgeheilt	24. Tag
	1599	„	26. „
	1600	„	32. „
	1601	„	24. „
1 Stunde	1602	abgeheilt	40. Tag
	1603	„	32. „
	1604	„	40. „
	1605	„	32. „
2 Stunden	1606	stirbt	2. Tag
	1607	abgeheilt	32. „
	1608	„	40. „
	1609	„	40. „
3 Stunden	1610	abgeheilt	40. Tag
	1611	„	40. „
	1612	„	32. „
	1613	„	40. „
4 Stunden	1614	stirbt	3. Tag
	1615	„	5. „
	1616	abgeheilt	53. „
	1617	stirbt	4. „
5 Stunden	1618	stirbt	4. Tag
	1619	„	3. „
	1620	„	3. „
	1621	abgeheilt	40. „

Die überlebenden Tiere nahmen in der ersten Woche fast regelmäßig etwa 15—20 % an Körpergewicht ab. Sie machten in den ersten Tagen einen kranken Eindruck, nahmen dann aber von der 2. Woche ab wieder sehr schnell zu und zeigten mit wenigen Ausnahmen, bei denen eine Extremität gelähmt war, keine krankhaften Erscheinungen mehr. Die Wunden trockneten sehr schnell ein, bereits nach 12—20 Stunden waren sie mit einem feinen Häutchen überzogen, das nach 24—30 Stunden derb und fest wurde. Am 2. oder 3. Tage bildete sich bei den McO.-Tieren meist ein derbes, fünfmarkstück-, oft aber auch kleinhandtellergroßes Infiltrat. Die sofort und nach 1 Stunde behandelten Wunden heilten oft schon nach 25—30 Tagen vollkommen ab, während die nach 3—4 Stunden behandelten erst am 40. bzw. 50. Tage wieder mit normaler Haut bedeckt waren. Meist stößt sich zu dieser Zeit ein Bezirk ab, der ungefähr der Einwirkungszone des McO. entspricht. Darunter kommt dann die neue, bereits mit Fell bewachsene Haut zum Vorschein.

Die Tatsache, daß Meerschweinchen 3 Stunden nach der Infektion mittels McO. noch gerettet werden konnten, ist um so bemerkenswerter, als W. Loehr (15) nach eingehender Besprechung des einschlägigen Schrifttums zu dem Ergebnis kommt, eine sichere örtliche Beeinflussung der Wunddiphterie sei bis jetzt noch nicht möglich.

Weiterhin beschäftigte uns nun die Frage, wie dieses Überleben von Tieren erklärt werden kann. Es bestehen dafür drei Möglichkeiten. Entweder zerstört das Mittel ebenso wie im Reagenzglasversuch auch in der Wunde weitgehend DiB. oder es entgiftet das Di.-Toxin, es könnte aber auch eine örtliche und allgemeine Resistenzsteigerung bewirken. Das Nächstliegende war, an eine Abtötung der Di.-B. zu denken. Es wurden dazu Kontrollversuche mit 5%iger Phenollösung angestellt. Im Bakterizidieversuch tötet dieses Di.-B.

im Augenblick des Einwirkens. Bei einer Behandlung, die sofort oder nach einer Stunde erfolgte, war der Tod um 3 Tage hinausgeschoben; bei einer Behandlung nach 2, 3 und 4 Stunden jedoch sterben die Tiere wie die Kontrollen. Zu ähnlichen Ergebnissen kommt auch A. Reinhardt (19), der den Einfluß von Trypaflavin 1:1000, Sublimat 1:1000, Phenol 5%ig, Jodtinktur 10%ig und Jodoformpuder auf Di.-B. in der Wunde untersuchte. Er spülte ½ Stunde nach der Infektion Hautwunden 2—3 Minuten lang mit 10,0 ccm der zu prüfenden Flüssigkeit. Jodoformpuder wurde auf die Wunde gestreut und gut verrieben. Reinhardt stellte fest, daß nur Trypaflavin ½ Stunde nach der Infektion den Tod verhindern kann, während alle übrigen Desinfektionsmittel vollständig versagt haben. Nach seiner Angabe hatten die Mittel nicht einmal eine Verzögerung des Todes herbeigeführt, obwohl sie — abgesehen von Jodoform in vitro — eine deutliche bakterientötende Wirkung entfalten. Die Di.-B. wurden durch keines der anerkannten Desinfektionsmittel abgetötet, wie er durch Kultivieren aus den Wunden der toten Tiere nachwies. Feiler (8) konnte durch Abimpfen noch zeigen, daß trotz der Behandlung mit Desinfektionsmitteln bis zum Tode Di.-B. in den Wunden nachgewiesen werden konnten, während bei Tieren, die mit Trypaflavin behandelt worden waren, Bakterien nach 1 Stunde abgetötet und bald darauf zerstört und aufgelöst worden waren. Wahrscheinlich handelt es sich beim McON. auch z. T. um einen ähnlichen Vorgang, wie die Versuche mit Konjunktivaldiphtherie noch zeigen werden. Es müssen aber auch noch andere Komponenten von Wichtigkeit sein, da ja 3 Stunden nach der Infektion Tiere noch mit Sicherheit gerettet werden können und zu diesem Zeitpunkt auch stärkste Desinfektionsmittel vollkommen unwirksam waren. Wahrscheinlich ist auch die Toxinentgiftung, die weiter oben schon ausführlich besprochen wurde, von ausschlaggebender Bedeutung. Daß sich Yatren in der Wundbehandlung als heilungsfördernd und granulationsanregend und bei Infektionen durch seine bakterizide Wirkung und Anregung der Schleimhautzellen zu erhöhter sekretorischer Tätigkeit gut bewährt hat (Fr. E. Koch [11]), wurden Kontrollversuche mit Yatren angestellt, die jedoch völlig ergebnislos verliefen; denn die behandelten Tiere starben wie die Kontrollen.

Das grundsätzliche Versagen ausschließlich antibakteriell wirkender Substanzen bei der Di.-Infektion und die im Gegensatz dazu auffallende Heilwirkung des McON. veranlaßte, dem Zusatz von $MnCl_2$ besondere Beachtung zu schenken, weshalb mit dieser Substanz besondere Versuche durchgeführt wurden. Es zeigte sich dabei, daß dieses für sich allein keine bakterien- oder toxinzerstörende Wirkung entfaltet. Wir hatten vielmehr den Eindruck, daß $MnCl_2$ imstande sei, die Toxinwirkung noch zu aktivieren, da einige Tiere, die Toxin + $MnCl_2$ erhalten hatten, schneller starben als die Kontrollen. Diesen Widerspruch klärte E. Walbum (23) auf, indem er zeigte, daß $MnCl_2$ ähnlich wie auf chemische Reaktionen auch auf den lebenden Organismus katalytisch wirkt und die normale Fähigkeit des Organismus zur Verbrennung des Toxins in sehr hohem Grade steigern kann. Allerdings sind die erzielten Erfolge an eine optimale Dosierung gebunden. Fr. E. Koch (12) nimmt auf Grund von Versuchen an tetanusvergifteten Mäusen, bei denen eine Heilung durch Mangangaben in bestimmten Konzentrationen zum Antitoxin noch möglich ist, zu einer Zeit, wo das Antitoxin allein den Tod nicht mehr verhindern kann, an, daß Mangan die Bindung von Toxin und Antitoxin im Tierkörper beschleunigt.

Einfluß der Ernährung bei Heilversuchen diphtherieinfizierter Tiere

Zur Zeit der Futterumstellung der Tiere auf Winterfutter fielen einige Versuche negativ aus. Entweder war eine Virulenzsteigerung des Infektionsmaterials eingetreten, oder die Resistenz der Tiere war gesunken. Bedeutungsvoll für den negativen Ausfall der Versuche dürfte wohl schon die Fütterungsumstellung als solche gewesen sein. H. Schindler (21) konnte in einer großen Reihe von Versuchen zeigen, daß durch eine plötzliche Fütterungsumstellung bei Tieren in kurzer Zeit der Tod herbeigeführt werden kann. Wichtig dürfte auch noch der Vitaminmangel, besonders an Vitamin C, in der Winternahrung sein (vgl. dazu die Arbeiten von C. C. King und M. L. Menten (9), H. J. Jusatz (14), W. Pfannenstiel (17), E. Reyhe (20) und L. Oelrichs (16).

Wurde nun bei den folgenden Versuchen den Tieren wieder Grünfutter gereicht, so starben die Kontrollen, wie zu erwarten, spätestens nach 48 Stunden. Tiere, die sofort McON. erhalten hatten, überlebten alle. Die nach 1 und 2 Stunden behandelten starben zur Hälfte, doch war die Lebenszeit gegenüber den Kontrollen erheblich ver-

längert. — Bei der Behandlung nach 4 Stunden kamen alle Tiere ad exitum. Es scheint also doch die Ernährung für den Infektionsablauf eine ganz erhebliche Rolle zu spielen.

Neben der Ernährung werden auch noch jahreszeitlich bedingte Umstände für die Schwere der Di-Erkrankung verantwortlich gemacht. So fällt nach M. Raschdorf (18) das Minimum des Auftretens der Di.-Erkrankungen in Deutschland in die Monate April bis August, und das Maximum wird in der 49. Woche erreicht. Raschdorf ist der Ansicht, daß die große Zahl der Lichtstunden im Sommer das Minimum an Erkrankungsfällen herbeiführt. Ähnliche Beobachtungen teilten Callcaterra (4) und Sonne (22) mit. In eigenen Versuchen konnten wir bei Wund-Diphtherie keinen Unterschied feststellen. So starben die Tiere, die im Dunkeln gehalten worden waren, fast zur gleichen Zeit wie diejenigen, die einem dauernden Lichtbad ausgesetzt waren. A. Reinhardt (19) kommt zu gleichen Ergebnissen. E. Walbum (24) glaubt eine größere Empfindlichkeit der Tiere während der Wintermonate als im Sommer beobachtet zu haben.

IV. Untersuchungen über den Einfluß von Merc. cyan. Oplx. N bei der experimentellen Konjunktivaldiphtherie der Meerschweinchen

Wenn auch Versuche mit Di.-Wundinfektion gewisse Schlüsse und Parallelen zur Di. beim Menschen zulassen, so ist doch zu bedenken, daß die unbehandelten Tiere innerhalb von 48 Stunden eingehen, d. h. also in dieser Beziehung immerhin noch Unterschiede gegenüber der des Menschen vorliegen. Außerdem steht bei so kurzer Lebensdauer nach der Infektion nur noch wenig Zeit für therapeutisches Eingreifen zur Verfügung. Wir suchten daher die Infektion am Meerschweinchen so abzuändern, daß wir eine längere Krankheitsdauer erzielten. Diesen Vorteil schienen Versuche mit Conjunctivaldiphtherie zu haben. Damit erreichten wir aber gleichzeitig noch, daß wir äußerlich ablesen konnten, wie weit die Krankheit fortgeschritten war. Auch die therapeutische Wirkung war bis zu einem gewissen Grade an dem Stillstand oder Rückgang der örtlichen Veränderungen erkennbar.

Zur Erzeugung einer Augendiphtherie beim Versuchstier müssen allerdings eine Reihe von Vorbedingungen erfüllt sein, denn durch unmittelbares Auftragen gelingt es nicht, Di.-Kulturen zum Haften zu bringen. Wir gingen nun folgendermaßen vor: Wir verwendeten Meerschweinchen im Gewicht von 220—250 g, da Bieling und Oelrichs (1) bei jungen Tieren häufiger schwere örtliche Veränderungen beobachtet hatten. Vor den Versuchen wurde die Conjunctiva beider Augen durch je 1 Tropfen 2 %iger Pantocainlösung empfindungslos gemacht. Danach verrieben wir eine halbe Öse 48stündiger Di.-Kultur (Typ. gravis) auf die Conjunctiva des Unterlides. Zur Verhütung des Lidschlages der Tiere legten wir auf das geschlossene Auge einen kleinen Mulltupfer und befestigten über beide mit Mastix-Ätherlösung einen Mullstreifen. Der proximale Rand wurde noch durch einen Leukoplaststreifen überklebt, da sonst die Tiere mit den Pfoten den Rand des Verbandes abhoben. Auch durfte dieser nicht zu fest fixiert werden, da er nach 18 Stunden wieder abgenommen werden sollte. Dabei zeigten sich bei allen Tieren die Symptome einer akuten Conjunctivitis (Rötung der Conjunctiva tarsi, ödematöse, sulzige Schwellung der Conjunctiva bulbi). In den nächsten Stunden nahm die Schwellung und Rötung der Schleimhäute weiter zu. Bei einer Reihe von Tieren war bereits eine schleierartige Trübung der Cornea zu sehen. Bei mehreren Tieren beobachteten wir an der Schleimhaut des Ober- und Unterlides ziemlich festsitzende graue Beläge, nach Art von diphtherischen Membranen. Wischte man diese ab, so kam es meistens zu Blutungen der

Tabelle 2

Einfluß von McON. auf Augendiphtherie

Behandlung[1])	Nr.	bakt. Di-Befund 2. Tag Auge links	bakt. Di-Befund 2. Tag Auge rechts	Ausgang	Makrosk. Befund 20. Tag Auge links	Makrosk. Befund 20. Tag Auge rechts
McON.	1827	—	—	lebt	o.B.	zerstört
	1828	—	—	lebt	o.B.	o.B.
	1829	—	—	lebt	o.B.	o.B.
	1830	—	+	+ 5		
	1831	+	++	+ 7		
	1832	(+)	—	lebt	o.B.	o.B.
Na Cl-Kontrollen	1836	+++	+	+ 5		
	1837	++	—	lebt	zerstört	o.B.
	1838	++	++	lebt	zerstört	zerstört
	1839	+++	+++	+ 3		
	1840	(±)	++	+ 3		
	1841	+	+++	+ 5		

[1]) Ausspritzen beider Augen mit 2,0 ccm Flüssigkeit 18 Stunden, 20 Stunden und 24 Stunden nach der Infektion.

Schleimhaut. Häufig verklebten die Lidwimpern durch die eingetrockneten Eitermassen. An Stelle des Auges sah man dann eine dicke Eiterborke. Öffnete man am 3. Tage ein solches Auge, so war die Conjunctiva samtartig geschwollen. Die Cornea war in vielen Fällen milchig getrübt. Einige Male war auch bereits ein Infiltrat in dieser Trübung festzustellen. Daraus entwickelte sich sehr schnell ein fortschreitendes Ulcus corneae. Bei solchen Tieren kam es dann gegen Ende der ersten Woche zur vollkommenen Zerstörung des Auges, wenn sie nicht bereits vorher ad exitum gekommen waren. Bei einigen kam es sogar zu geschwürigem Zerfall des Ober- und Unterlides.

Bei derartig infizierten Tieren wurden nun beide Augen mit 1,0 ccm McON. durchgespült. Eine gleiche Anzahl blieb unbehandelt, während eine dritte Gruppe nur physiol. NaCl-Lölung erhielt, um die mechanische Wirkung der Spülung zu beobachten. Die Kontrollen, die mit NaCl behandelt waren, starben alle, von den unbehandelten überlebte eines. Es kam jedoch zu eitriger Einschmelzung beider Bulbi. Die am 4. und 6. Tage nach der Infektion angelegten Kulturen ergaben bei allen überlebenden Tieren reichlich Di.B. Von den drei McON.-Tieren starben etwas später noch zwei. Es konnten jedoch jeweils nur auf einem Auge Di.-B. nachgewiesen werden. Bei den überlebenden Meerschweinchen konnten aus dem linken Auge Di.-B. gezüchtet werden. Nach Abklingen der Entzündungserscheinungen blieb eine milchige Trübung der Cornea zurück. Im rechten Auge waren mit Anreicherungsnährböden nur einzelne Di.-B. nachweisbar. Dieses heilte wieder vollkommen ab.

Danach scheint es durch Behandlung mit McON. möglich zu sein, den größten Teil der Di.-B. im Gewebe zu vernichten, während sie bei den Kontrolltieren stets bis zum Tode nachgewiesen werden konnten. Da aber trotzdem ein Teil der Meerschweinchen einging, mußte bereits nach 18 Stunden eine große Toxinmenge vom Erkrankungsherd aus resorbiert worden sein.

Nach den bisherigen Erfahrungen war anzunehmen, daß durch häufigere und stärkere Behandlung auch noch die Reste der Di.-B. zerstört und eine nachträgliche Toxinerzeugung verhindert werden könnte. Wir infizierten daher nochmals 12 Meerschweinchen. 6 wurden mit physiologischer NaCl-Lösung, 6 mit McON. behandelt, und zwar 18, 21 und 24 Stunden nach der Infektion mit je 2 ccm Flüssigkeit. Wie Tabelle 2 zeigt, fanden sich 24 Stunden nach der ersten Behandlung mit McON. bei 3 Tieren beiderseits keine Di.-Bakterien mehr, bei 2 nur auf einer Seite und bei 1 Tier noch auf beiden Seiten. Von den Kontrollen war kein Tier frei von Di.-B. Von den McON.-Tieren überlebten 4, von den Kontrollen nur 2, 4 gingen ein. Von den überlebenden McON.-Tieren zeigte nur eines auf einer Seite eine Vereiterung des Bulbus, während bei den Kontrollen nur bei einem Tier auf einer Seite das Auge wieder ausheilte. Da schon hochwertiges Di.-Toxin allein zu einer Zerstörung der Bulbi führen kann, so erscheint es nach diesen Versuchen nicht ausgeschlossen, daß McON. nicht nur imstande ist, im Gewebe Di.-B. zu zerstören, sondern auch Di.-Toxin im Organismus zu entgiften.

Zusammenfassung

Die von Fr. E. Koch gemachten Angaben über die Wirkung von Merc. cyan. Oplx. decken sich mit den eigenen Versuchsergebnissen. Darüber hinaus untersuchten wir das gestellte Problem noch in einer Reihe eigener Versuche. Es ergab sich:

I. Merc. cyan. Oplx. zeigt im Bakterizidieversuch eine 150mal stärkere Wirkung wie das optimalste Einzelmittel.

II. In vitro entgiftet McO. und McON. Di.-Toxin augenblicklich.

III. In vivo verlängert es bei bestimmten Konzentrationen die Lebensdauer toxinvergifteter Tiere; ein Teil der Tiere konnte geheilt werden.

IV. Wund-Diphtherie-Tiere konnten in den Sommermonaten durch örtliche Behandlung mit McON. bis zu 3 Stunden nach der Infektion fast mit Sicherheit gerettet werden. Bei fehlender Grünfütterung fielen die Versuche negativ aus. Nach Wiedereinführung der Grünfütterung kurz vor der Infektion erhielten wir ähnliche Ergebnisse wie in den Sommermonaten.

V. Conjunctivaldiphtherie des Meerschweinchens kann erfolgreich mit McON. behandelt werden. Diphtheriebakterien verschwinden meist infolge der Behandlung. Lokale Veränderungen waren seltener und heilten schneller ab als bei den Kontrollen.

Neben der Abtötung der Diphtheriebakterien und der Entgiftung des Diphtherietoxins scheint McO. eine örtliche und allgemeine Resistenzsteigerung zu bewirken.

Schrifttum

1. Bieling, R. und L. Oelrichs: Z. Hyg. 117 (1936): 792; Z. Immunit.forsch. 87 (1936): 279; Zbl. Bakter. I Orig. 137 (1936): 226. — 2. v. Bormann, F.: Erg. inn. Med. 45: 433. — 3. Bürgi, E.: Die wissenschaftl. Grundlagen der Kombinationstherapie. Radebeul 1932. — 4. Callcaterra, A.: Inn. Ist. maragliano 4 (1911): 4. — 5. Clauberg, K. W.: Klin. Wschr. 1936: 18. — 6. Dernby, K. G. und Walbum, L. E.: Biochem. Z. 138: 529. — 7. Doshocil, A.: Zas. Lék. cesk. 1936: 181. — 8. Feiler, M.: Zbl. Hyg. 95 (1922): 1. — 9. King, C. G. und M. L. Menten: J. Nutrit. (Am.) 10 (1935): 129. — 10. Koch, Fr. E.: Jb. Dr. Madaus & Co. 1936: 44. — 11. Ders.: M. m. W. 1932: 910. — 12. Ders.: Z. Immunit.-forsch. 87 (1936): 130. — 13. Koch, Fr. E. und E. Krämer: Zbl. Bakter. I. Orig. 123 (1931): 308. — 14. Jusatz, H. J.: Z. Immun.-forsch. 88 (1936): 472. — 15. Loehr, W.: Zbl. Chir. 42 (1936): 2428. — 16. Oelrichs, L.: Z. Hyg. 117 (1935): 684. — 17. Pfannenstiel, W.: Med. Welt 1937: 231. — 18. Raschdorf, M.: D. m. W. 1936: 1441. — 19. Reinhardt, A.: Zbl. Hyg. 95 (1922): 1. — 20. Reye, E.: M. m. W. 1936: 392. — 21. Schindler, H.: Unveröffentlichte Untersuchung. — 22. Sonne, C.: C. r. Soc. Biol. Paris. 85 (1921): 759. — 23. Walbum, L. E.: Kolle-Kraus-Uhlenhuth, Hdb. d. path. Mikroorganismen, II, 1, 541; Z. Immunit.-forsch. 61: 147. — 24. Ders. Das Di.-Toxin. Abderhalden. Hdb. d. biol. Arbeitsmethoden Abt. XIII, Teil 2, S. 656.

Anschrift: Nürnberg, Städtische Frauenklinik, Flurstraße

Lebenslauf:

Geboren am 19. Juni 1912 zu Nürnberg, besuchte ich von 1918—1923 die Volksschule und von 1923—1932 das Reform-Realgymnasium in Nürnberg. Darauf studierte ich 5 Semester in Erlangen und 6 Semester in München Medizin. Das medizinische Staatsexamen beendete ich am 18. Dezember 1937. Das Doktorexamen legte ich am 21. Dezember 1937 ab.